

## Derleme Makaleleri

Pharmacia-JTPA

31 (2), 54-68, 1991

# İLAÇ TAŞIYICI SİSTEMLER OLARAK MİKROKÜRELER VE HAZIRLAMA YÖNTEMLERİ

Nilüfer YÜKSEL(\*)      Tamer BAYKARA(\*)

## ÖZET

Mikroküreler, küresel, katı partiküller şeklindeki ilaç taşıyıcı sistemlerdir. Bu sistemler uzun süreli ve / veya geciktirilmiş etken madde salını sağlamak için olduğu kadar biyolojik çevreden etken maddeyi korumak için de tasarulanmaktadır. Bazı durumlarda amaç, etken maddenin vücuttaki spesifik etki yerine hedeflendirilmesi, bazen de lokal olarak kontrollü etken salınının oluşturulmasıdır. Özellikle, etken maddenin hedeflendirilmesi alanında mikroküreler, önemli bir yere sahiptir.

Mikrokürelerin hazırlanmasında pek çok farklı maddenin kullanıldığı çeşitli yöntemler vardır. Bunlardan çözücü buharlaştırma yöntemi, protein jelleştirme yöntemleri (ısı ile denaturasyon, kimyasal yolla çapraz bağ oluşturulması, desolvasyon), emülsiyon polimerizasyon yöntemleri (epiklorohidrin ile çapraz bağ oluşturulmuş nişasta mikroküreleri, çapraz bağlı poliakril mikroküreler) çoğunlukla kullanılan yöntemlerdir. Literatürlerde yer alan diğer hazırlama yöntemleri ise, küresel kristalizasyon, quasi-emülsiyon çözücü difüzyonu, sıcakta eritme ve faz ayrışması yöntemleridir.

Bu derlemede, mikrokürelerin hazırlanma yöntemleri anlatılmıştır.

## MICROSFERES AS DRUG CARRIER SYSTEMS and PREPARATION METHODS

### SUMMARY

Microspheres in the form of solid-spherical particles are drug carrier systems. These systems are designed to protect drugs from the biological environment as well

(\*) A. Ü. Eczacılık Fakültesi, Farmasotik Teknoloji Anabilim Dalı, 06100 Tandoğan Ankara

as provide prolonged and/or delayed drug release. In some cases, the goal is to target a drug to a site of action in the body. In other cases, the goal is to provide localised controlled drug release. In particular, microspheres are important in the area of drug targeting.

A variety of methods for preparing microspheres from many different materials have been disclosed. The generally used methods are solvent evaporation method, protein gelation methods (heat denaturation, chemical cross-linking, desolvation), emulsion polymerization methods (epichlorohydrin cross-linked starch microspheres, cross-linked polyacryl microspheres). Also, the other preparation methods in the literatures are spherical crystallization technique, quasi-emulsion solvent diffusion method, hot-melt microencapsulation and phase separation microencapsulation.

In this paper, different preparation methods of microspheres are reviewed.

**Key words:** Microspheres, controlled drug delivery, drug targeting, solvent evaporation, protein gelation, emulsion polymerization, spherical crystallization, quasi-emulsion solvent diffusion, hot-melt.

## GİRİŞ

Mikroküreler, içlerinde etken maddenin moleküller düzeyde ya da makroskopik partiküller halinde disperse edildiği, bir kaç  $\mu\text{m}$ 'den mm boyutlarına kadar değişen çap dağılımına sahip, katı, küresel, partiküller şeklindeki kontrollü salım sağlayan ilaç taşıyıcı sistemlerdir. Burada "Kontrollü salım" deyimi;

- 1- Etken maddenin salım hızının
- 2- Etken maddenin vücuttaki biyolojik dağılımının kontrol edilmesini ifade etmektedir. Dolayısıyla mikroküreler,

\* Hem oral hem parenteral yolla sürekli etki elde edilmesi,

\* i.m., i.p., s.c., perkütan, intra-artiküler, oftalmik veya nazal yolla bölgесel kontrollü etken madde salımı,

\* Kan dolaşımına enjeksiyonla etken maddenin etki yerine hedeflenmesi,

İçin kullanılabilir mektedir. Böylece etken maddenin dozunun düşürülmesi ve yan etkilerinin azaltılması amaçlanmaktadır (1-5). Mikrokürelerin etki yerine hedeflendirilmesi iki farklı yolla sağlanabilmektedir. Birincisi, ilaç taşıyıcı sistemin yapısı ve bileşiminden bağımsız olarak i.v. enjeksiyondan sonra vücuttaki doğal dağılımı ile oluşan pasif hedeflemektedir. Bu şekilde hedeflemede mikroküreler retikuloendotelyal sistem (RES) tarafından tutulurlar. Büyük partiküller ( $>7\mu\text{m}$ ) akciğerlerde tutulurken orta çaptaki partiküller ( $>100 \text{ nm}-7\mu\text{m}$ ) karaciğer ve dalağa yönlenirler. İkinci yol ise, belirli hücre ve reseptörlere özgü monoklonal antikorların

mikroküre yüzeyine bağlanması ile sağlanan aktif hedeflemedir. Bu, çok spesifik bir yaklaşımdır. Mikroküre yüzeyine takılan, spesifik tanıma özelliğine sahip biyomoleküller ile vücutun istenilen bölgesine hatta spesifik hücrelere hedefleme yapmak mümkündür (1,3,5-7).

Bunların dışında mikroküreleri manyetik partiküler ile yüklemek de dolaşım sistemine verdikten sonra vücut dışından yönlendirerek istenilen bölgeye hedeflemeyi mümkün kılmaktadır (1,8).

Bu sistemlerin bilimsel araştırmalarda çoğunlukla uygulandığı alanlar şunlardır (3,5):

- \* Kanser kemoterapisi
- \* Kardiyovasküler uygulamalar
- \* İnsülin ve diğer peptid/protein salım sistemleri
- \* Kontraseptif uygulama (özellikle hormon salımı)
- \* Enfeksiyonların tedavisi
  - Antiviral ajanlar
  - Antibiyotikler
  - Antifungal ajanlar
  - Antiparaziter ajanlar
- \* Bağışıklık kazandırma

#### MİKROKÜRELERİ HAZIRLAMA YÖNTEMLERİ

Mikrokürelerin (manyetik olmayan) hazırlanmasında pek çok farklı maddenin kullanıldığı çeşitli teknikler vardır (7):

- 1- Çözücü buharlaştırma yöntemi
- 2- Protein jelleştirme yöntemleri
  - a) Isı ile denaturasyon
  - b) Kimyasal yolla çapraz bağ oluşturulması
  - c) Desolvasyon
- 3) Emülsiyon polimerizasyonu yöntemleri
  - a) Epiklorohidrin ile çapraz bağ oluşturulan nişasta mikroküreleri
  - b) Çapraz bağlı poliakril mikroküreler.

## **1 - Çözücü buharlaştırma yöntemi (9-21):**

İşlemde ilk adım uçucu bir çözücüde etken maddeyi çevreleyecek olan polimer yapısındaki çeper materyalinin çözülmESİdir. Etken madde yani çekerdek materyal bu çözeltide çözülmekte ya da disperse edilmektedir. Bu organik faz Y/S tipi bir dispersiyon oluşturmak üzere bir emülgatör içeren su fazı ile karıştırılmaktadır. Bu ortamdan genellikle düşük basınç altında organik çözütünün uçurulmasıyla katı partiküler şeklinde mikroküreleri içeren bir süspansiyon elde edilmektedir. Mikroküreler filtrasyonla ayrılmaktadır.

Bu işlemde genel olarak kullanılan emülgatörler, jelatin, polivinil alkol ve metil sellüloz gibi hidrofilik kolloidlerdir. Anyonik ve nonionik yüzey aktif maddeler ve yağ asidi tuzları (sabunlar), bu yöntemde kullanılabilcek diğer emülgatörlerdir (10). Uçucu çözücü olarak çoğunlukla metilen klorür (10-15, 17), daha az olarak aseton (9, 16); mikrokürelerin olduğu süspansiyon ortamı olarak ise, çoğunlukla su içeren ortam ve nadiren sıvı parafin (16, 18) kullanılmaktadır. Polimer olarak, poli(L)laktik asit, poli(D,L-Laktid), poli(glikolik asit-ko-L-laktik asit) (9-14, 19); poli-ε-kaprolakton (21); akrilik polimerler (15, 16, 20); polihidroksi bütirik asit (17); hiyaluronik asit esterleri (18) gibi farklı maddeler literatürlerde yer almaktadır.

Bu yöntemle hazırlanan mikrokürelerin etken madde içeriği ve etken madde salım hızı üzerine etkili parametreler olarak değerlendirilmesi gereklİ faktörler şunlardır: Polimer-etken madde oranı, mikroküre elde edilmesinde ortamın karıştırılma hızı, emülgatör tipi/konsantrasyonu ve çözütün buharlaştırılma hızı.

Teofilinin oral yolla kullanılmak üzere uzun süre etkili polimetil metakrilat mikroküreleri, çözücü buharlaştırma yöntemiyle hazırlanmış ve etken maddenin mikrokürelerden invitro salım hızı ile mikroküre özelliklerini etkileyen bazı işlem parametreleri araştırılmıştır (16). Tablo 1'de görüldüğü gibi etken-madde polimer oranı, 1:2.25 ten 4:2.25'e yükseldiğinde etken madde içeriği de%30.9'dan %58.1'e yükselmekte ve  $t_{50}$  süresi kısalmaktadır; bunun nedeni polietilen glikolden dolayı mikrokürelerin yüzeyinin poroz yapıda olmasıdır. Etken madde içeriğinin artmasına karşılık  $t_{50}$  süresinin kısalma nedeni ise, mikrokürelerden etken maddenin çıkışını yavaşlatmak için gerekli polimer miktarının az olmasıdır.

**Tablo 1:** Çözücü buharlaştırma yöntemi ile hazırlanan mikrokürelerde etken madde içeriği ve  $t_{50}$  (invitro çözünme hızı tayininde elde edilen) süreleri üzerine işlem parametrelerinin netkisi (16).

Formül no.su	Etken Madde: polimer oranı	PEG (%)	Etken Madde içeriği (:%± S.S)	$t_{50}$ (saat)
1	1:2.25	10	30.83±0.09	>8
2	2:2.25	10	42.98±0.38	>8
3	3:2.25	10	51.94±0.19	2.55
4	4:2.25	10	58.14±0.59	1.25
5	2:2.25	5	43.28±1.08	>8
6	2:2.25	10	41.78±1.21	>8
7	2:2.25	15	41.07±0.18	1.80
8	2:2.25	20	41.38±1.16	1.20
9	2:2.25	30	39.86±1.01	0.50

Diğer bir çalışmada, intra-arteriyel infüzyonla tümör embolisi oluşturmak amacıyla Lomustin içeren poli (D, L-laktid) mikroküreler, çözücü buharlaştırma yöntemi ile hazırlanmıştır (11). Mikrokürelerin çapı ve etken madde içeriği üzerine karıştırma hızının etkisi incelendiğinde, karıştırma hızı artışının mikrokürelerin ortalama çapının küçülmesine neden olduğu ancak etken madde içeriği üzerine önemli derecede etkili olmadığı belirtilmiştir (Tablo 2).

Bu yöntemde, çözücünün buharlaştırılma hızının, mikrokürelerin şekil ve porozitesini etkilemesinden dolayı mikrokürelerden etken madde salım hızı üzerinde önemli rol oynayabileceği belirtilmektedir (12).

**Tablo 2:** Lomustin içeren mikrokürelerin etken madde içerikleri ve çapları üzerine karıştırma hızının etkisi (11).

Karıştırma hızı hızı (rmp)	Etken Madde içeriği (%)	Ortalama partikül çapı ( $\mu\text{m} \pm \text{S.S}$ )
150	20.2	289.9±88.3
250	19.8	102.5±25.1
350	19.7	71.0±16.6
450	19.9	58.2±15.6

## 2-Protein jelleştirme yöntemleri (22-29):

Bu yöntemle mikrokürelerin hazırlanması için jelatin ve albümين gibi

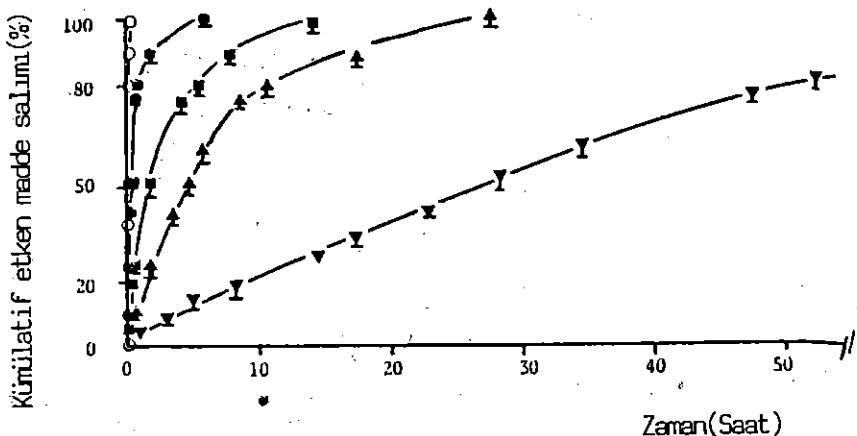
proteinler kullanılmaktadır. Protein mikrokürelerin hazırlanmasında en fazla kullanılan ilaç taşıyıcı, albümindir. Ancak taşıyıcı matris olarak optimal özelliklere sahip olup olmadığı bilinmemektedir. Temel olarak yüksek etken madde içeriği ve yavaş etken madde salım hızı, uygun olan özellikleridir. Ama çoğu sistemde bu özelliklerin etken maddenin invivo aktivitesini ne şekilde değiştirdiği açık değildir. Bu nedenle karşılaştırmalı verilerin elde edilmesi için taşıyıcı matris olarak araştırılan diğer protein kazein'dir (22,23).

Protein mikrokürelerin hazırlanmasında, etken madde ve protein distile suda çözüldükten sonra bu su fazı, bir yüzey aktif madde yardımı ile S/Y tipi bir emülsiyon oluşturmak üzere yağ fazına ilave edilmektedir. Yağ fazi olarak bitkisel yağlar (zeytin yağı, ayaççık yağı, pamuk tohumu yağı, hint yağı) veya sıvı parafin kullanılmaktadır. Emülsiyon oluşumunun başlamasını takiben ortamın mikroküreleri içeren bir süspansiyon şecline dönüşmesi için üç teknik kullanılmaktadır:ısı ile denaturasyon, kimyasal yolla çapraz bağ oluşturulması, desolvasyon.

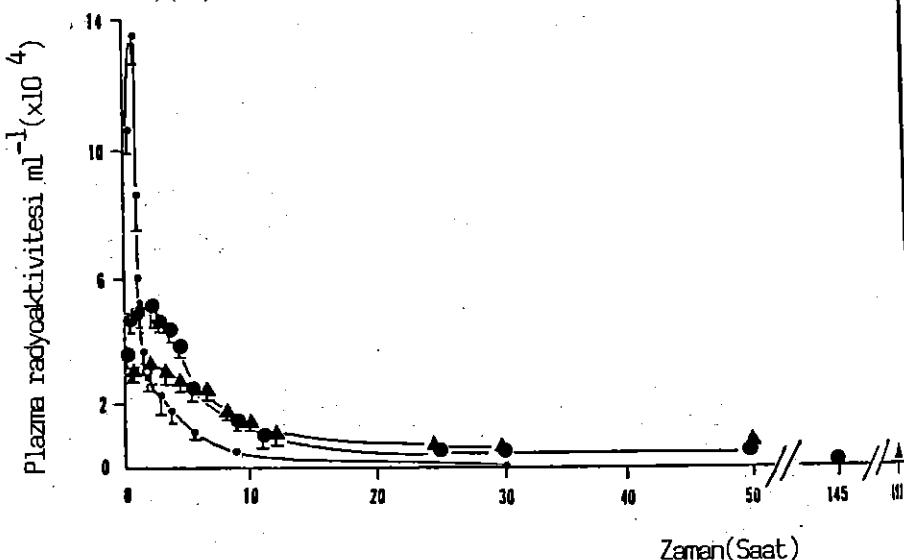
**a- İşı ile denaturasyon** (24, 25): Emülsiyonun, 110-190° C arasındaki bir sıcaklıkta belirli bir süre boyunca karıştırılarak ısıtılmıştır. Bu işlemle, protein moleküllerinin arasında ve moleküllerin içinde serbest sülfidril grupları (SH) üzerinden disülfit bağları oluşturarak çapraz bağlanma sağlanmaktadır, ortamda su buharlaşarak katı pürtüküler şeklinde mikroküreler elde edilmektedir. Uygulanan sıcaklığın derecesi ve süresi, çapraz bağ yoğunluğunu etkilemektedir. Bu parametreler kontrol edilerek bir kaç dakikadan aylara kadar değişen bir zaman periyodunda etken madde salımı sağlanabilmektedir.

Bir çalışmada prednisolonun uzun bir süre boyunca (hafta veya ay) uygun invivo salım profiline sahip albumin mikrokürelerini hazırlamak amacıyla farklı derece ve sürelerde ısı ile stabilizasyon yapılmıştır (24). Etken maddenin dekompoze olmadığı maksimum sıcaklık 160° C olduğundan uygun stabilité sıcaklığı olarak 155°C seçilmiş ve etken madde içeren mikroküreler 1-24 saat boyunca bu sıcaklıkta tutulmuşlardır. Şekil 1'de görüldüğü gibi pH sı 7 olan fosfat tamponu (37°C) içinde mikrokürelerden etken maddenin salım hızı, ısıtma süresinin artışı ile azalmaktadır. Bu sonuç invivo incelemede de gözlenmiştir: Tritium ile işaretlenen mikroküreler tavşanlara intra-artiküler enjeksiyon ile verilmiş ve zamana karşı dozla orantılı olan plazma aktivitesi tayin edilmiştir. (Şekil 2) (25).

**b-Kimyasal yolla çapraz bağ oluşturulması** (26-29): Etken madde ve proteini içeren su fazının bir yağ fazına katılmasıyla oluşan emülsiyona formaldehid, glutaraldehid gibi bir çapraz bağlayıcı maddenin doygun çözeltisinin ilave edilmesidir. Böylece emülsiyonun su fazındaki protein jelleşerek veya katılaşarak mikroküreler oluşmaktadır. Bu yöntemde emülsiyonun dış fazi olarak bitkisel yağlar dışında kloroform ve toluen gibi organik çözüçüler de kullanılabilmektedir. Kullanılan çapraz bağlayıcı maddenin konsantras-



Sekil 1: 37°C'de pH si 7.0 olan fosfat tamponunda prednisolonun invitro salım hızları. (o: ortalama partikül çapı  $2.4 \text{ } \mu\text{m} \pm 0.62$  olan toz haldeki etken madde; ●: 155°C'de 3 saat, ■: 155°C'de 6 saat, ▲: 155°C'de 12 saat, ▽: 155°C'de 24 saat süresince tutularak ısı ile stabilize edilen albumin mikroküreleri) (24)



Sekil 2: Radyoaktif olarak işaretli prednisolonun tavşanlara intra-artiküler enjeksiyonunu takiben elde edilen plazma radyoaktivitesi-zaman profilleri. (●: etken madde süsyansiyonu; ●: 150°C'de 10 saat süre ile stabilize edilen mikroküreler; ▲: 150°C'de 24 saat süre ile stabilize edilen mikroküreler) (25)

yonu ve reaksiyon zamanı, etken maddenin salım hızı ve mikrokürelerin parçalanma hızını etkilemektedir.

İnterferonun makrofajlara hedeflendirilmesi için sürekli etkili bir taşıyıcı olarak glutaraldehid ile çapraz bağ oluşturulmuş  $2\mu\text{m}$ 'den küçük çapta jelatin mikroküreler hazırlanmıştır. Makrofaj içeren hücre süspansiyonlarında mikrokürelerin fagosit edilmeleri ve takiben etken maddenin salım hızı incelenmiştir (27). Mikrokürelerin hazırlanmasında farklı konsantrasyonlarda glutaraldehid kullanılarak jelatinin çapraz bağ yoğunluğunun değiştirilmesi ile mikrokürelerin makrofajlar tarafından fagosit edilme özelliğinin ve makrofajlar içinde ise mikrokürelerin degradasyon hızının, doyayıyla etken madde salım hızının kontrol edilebildiği belirtilmiştir.

Protein mikroküreler, ısı ile denaturasyonla ya da kimyasal olarak çapraz bağ oluşumu ile hazırlanırken su fazı içinde mikrokürelerin disperse edilmesi için kullanılan yüzey aktif maddelerden dolayı bir dereceye kadar hidrofobik özellik göstermektedirler. Bunun nedeni, oda sıcaklığında yağ-su ara yüzeyinde hidrofobik bir film oluşumudur. Ayrıca denaturasyon esnasında partikül yüzeyine yağın absorpsiyonu da söz konusu olabilmektedir. Bu olumsuzluğu gidermek ve hidrofilik özellikle mikroküreleri hazırlamak amacıyla yüzey aktif maddelerin kullanılmadığı yeni bir yöntem geliştirilmiştir (28, 29). Yöntemde dispersiyon ajansı olarak polimetil metakrilat, polioksietilen-polioksipropilen kopolimeri gibi polimer maddelerin su ile karışmayan organik çözücülerdeki %25-30 konsantrasyondaki çözeltileri kullanılmaktadır. Etken madde, protein ile birlikte distile suda çözüldükten sonra polimer yapısındaki dispersiyon ajansının kloroform, toluen veya kloroform/toluen karışımı içindeki çözeltisine ilave edilmekte ve istenen partikül çapına bağlı olarak belirli hızda ve sürede karıştırılmaktadır. Mikrokürelerin stabilizasyonu için glutaraldehid kullanılmaktadır. Polimer çözeltisinin konsantrasyonu önemlidir;  $10\mu\text{m}$ 'den küçük mikrokürelerin hazırlanması söz konusu olduğunda %25'in altındaki konsantrasyon, koagülasyon önlemek için yeterli olmamaktadır, %30'un üzerindeki konsantrasyonda ise polimerin tamamının uzaklaştırılması güclüğündedir. Polimerin molekül ağırlığı da önemlidir; düşük molekül ağırlığına sahip polimetil metakrilat (intrinsik viskozitesi 0.4 olan), koagülasyon gözlendiğinden %25-30 konsantrasyonlarda faydalı olmamaktadır.

Organik dispersiyon fazında konsantrasyonlu polimer çözeltilerinin kullanımı, stabil dispersiyonlar vermektedir. Glutaraldehidle çapraz bağ oluşturulması mikrokürelerin yüzeyinde serbest aldehid grupları oluşturmaktır, bu ise etken maddeler, immunoglobinler, enzimler ve antikorların bağlanması şeklinde kimyasal modifikasyonlara olanak sağlamaktadır. Mikrokürelerin çapları, dispersiyonun oluşturulması sırasında uygulanan karıştırma hızı ve süresi ile kontrol edilebilmektedir.

**c- Desolvasyon** (7, 24): Isıya duyarlı etken maddelerin mikrokürelerinin hazırlanmasında ısı ile denaturasyon işlemi uygun bir yöntem olmamak-

tadır. Bu tür bir etken maddenin protein mikrokürelerinin hazırlanması için bir yaklaşım, etken madde içermeyen boş mikrokürelerin ısı ile ya da kimyasal olarak stabil hale getirilerek hazırlanmasından sonra bu mikrokürelerin ısıya duyarlı etken maddenin çözeltisi ile islatılmasıdır. Diğer yaklaşım, iç faz olarak proteinin sudaki çözeltisini içeren S/Y tipi emülsiyonun su fazının 22°C'de basit dehidratasyonla jelleştirilmesi ya da katılaştırılmıştır. Su fazı, emülsiyona ilave edilerek su fazından suyu ekstre eden ve yağ fazını çözen bir çözücü ile uzaklaştırılmaktadır. Bu amaçla dietil eter, aseton, etanol ve izopropanol gibi çözücüler kullanılmaktadır. Dietil eter, mikroemülsyon damlacıklarının yüzeyinde albumin moleküllerinin dönüşümlü denaturasyonunu sağlamakta ve agregat oluşumunu önlemektedir. Bu işlemden sonra mikroküreler filtrasyonla ayrılmakta ve adığeçen çözücülerle yıkanmaktadır.

### **3- Emülsiyon polimerizasyonu yöntemleri (7, 30-34):**

Bir emülsiyonun iç fazının polimerizasyonu, parenteral yolla veriliş için farklı türde mikrokürelerin hazırlanmasında kullanılmaktadır. Bu şekilde oluşturulan mikroküreler, etken madde içerebildiği gibi etken maddesiz, boş taşıyıcılar şeklinde de olabilmektedir. Etken madde içermeyen mikroküreler hedeflenen organı besleyen arteriyel damar içine etken madde çözeltisi ile birlikte enjekte edilebilmekte, hedef organa kan akımı dönüşümlü olarak durdurulmaktadır. Böylece etken madde bu belirli alan içinde daha uzun süre kalmakta ve etken maddenin periferik konsantrasyonu düşük olduğundan yan etkiler azalmaktadır. Emboli oluşturan bu mikrokürelerin plazmada hızlı bir şekilde parçalanması gerekmektedir. Bundan dolayı plazma amilazi ile hızla parçalanan nişasta bazlı mikroküreler kullanılmaktadır (7, 30).

**a-Epiklorohidrin ile çapraz bağ oluşturulmuş nişasta mikroküreleri (7):** Çapraz bağlı nişasta mikroküreleri, işlem görmüş nişasta çözeltilerinin epiklorohidrin içeren, su ile karışmayan bir sıvı içerisinde disperse edilmesi ile hazırlanmaktadır. İlk adım, %0.22 (a/a) oranında sodyum borohidrit içeren :%10 (a/a) konsantrasyondaki sodyum hidroksit çözeltisi içinde çözünebilir, konsantre (%36.2) nişasta çözeltisinin oluşturulmasıdır. Oda sıcaklığında 4 saat karıştırma işleminden sonra bu karışım, yine oda sıcaklığında oktanol tabakası altında karıştırmaksızın 48 saat bekletilmektedir. Dahasonra bu nişasta çözeltisi bir yüzey aktif madde içeren dikloroetilen içinde disperse edilmektedir. Sulu fazın organik faza oranı 0.4 (a/a)tür. Sulu fazın damlacık büyülüğu karıştırma hızı ile ayarlanmaktadır. Daha sonra sisteme nişastanın ağırlığının %6-18'i oranında epiklorohidrin katılmakta, karışım 50°C'ye kadar ısıtılp bu sıcaklıkta 16 saat karıştırılmaktadır. Elde edilen çapraz bağlı mikroküreler filtrasyonla ayrılp sırasıyla aseton, seyreltik asetik ve tekrar asetonla yıkanmaktadır. Bu işleme göre hazırlanan mikroküreler, suda önemli derecede şişmektedir. Böylece intraarteriyel uygulamada ortama bağlı olarak şekil almaktadırlar. İlave edilen epiklorohidrinin miktarı, şişme derecesini ve sudaki  $\alpha$ -amilaz çözeltilerinde bekletilen mikrokürelerin invitro yarı ömrünü etkilemektedir; epiklorohidrinin miktarı artarken yarı ömr de uzamaktadır.

**b-Çapraz bağ oluşturulan poliakril mikroküreler(31-34):** Hazırlama işleminde ilk olarak suda çözünebilir monomer (akrilamid, %6 a/h), capraz bağ oluşturan madde (metilen-bis-akrilamid, %2 a/h), etken madde ve katalizör (tetrametilendiamin ve amonyum persulfat) fosfat tampon çözeltisinde çözülmektedir. Bu çözelti, organik faz olarak yüzey aktif madde-poloksamer 188 içeren toluen-kloroform karışımı (4:1 h/h) içinde disperse edilmektedir. Polimerizasyon, oda sıcaklığında 5-30 dakikada olmaktadır. Daha sonra tampon ve fizyolojik tuz çözeltileri ile bir kez yılanarak mikroküreler ayrılmaktadır.

Poliakril mikroküreler, enzimler ve diğer makromoleküllerin vücutta spesifik organlar ve hücrelere aktif olarak hedeflenmesi açısından ümit vericidir. Ancak bu sistemlerin intravenöz verilişte vücutta öncelikle RES tarafından tutulması aktif hedeflemeyi güçlendirmektedir. Bu mikrokürelerde, etken maddenin bir kısmı polimer yapı içinde tutulurken bir kısmı da yüzeyde tutulmaktadır. Etken madde olarak hücre ile reaksiyona girebilen ajanların kullanıldığı mikroküreler, bu özelliklerinden yararlanılarak hücre ayırma işlemleri ve spesifik hücre yüzeyi reseptörlerinin izlenmesinde kullanılmaktadır (31).

Diger bir taşıyıcı materyal poliakril nişastadır. Poliakril nişasta mikroküreleri de esas olarak çapraz bağlı poliakrilamid mikrokürelerin hazırlanmasında kullanılan yöntemle hazırlanmaktadır. Ancak monomer farklıdır. Monomer olarak akrilik asit glisidil ester ile kimyasal olarak modifiye edilmiş maltodekstrin veya hidroksi etil nişasta kullanılmaktadır. Bu polisakkaritler, 0.2 molar fosfat tamponu (pH 8.5) içinde çözüldükten sonra akrilik asit glisidil ester katılmakta ve bu iki fazlı sistem 15 gün boyunca karıştırılmaktadır. Reaksiyona girmeyen akrilik asit glisidil ester uzaklaştırıldıktan sonra modifiye edilmiş polisakkarit türevi ayrılmaktadır.

Bu yönteme göre hazırlanan poliakril mikrokürelerin %80'i 0.5-2.5  $\mu\text{m}$  arasında bir partikül büyüklüğüne sahiptir (32-34). Poliakril mikroküreler, protein yapısındaki etken maddeleri vücuttaki proteolitik parçalanmadan korumak üzere kullanılabilirler. Bu sistemler i.v. verildiğinde makrofajlar tarafından fagosit edilerek hızla dolaşım sisteminden uzaklaştırılmakta ve RES'e pasif olarak hedeflenmektedir.

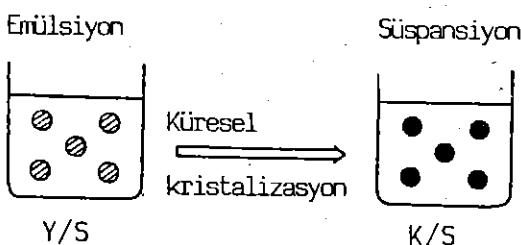
Mikrokürelerin hazırlanmasında kullanılan bu genel yöntemler yamısra literatürlerde yer alan diğer yöntemler şunlardır:

**Küresel kristalizasyon teknigi** (35, 36): Etken madde ve akrilik polimer metilen klorür/ethanol karışımında (1:1) çözülmüş 0.1 N-hidroklorik asit çözeltisine ilave edilmektedir. 30 dakika karıştırıldıktan sonra mikroküreler filtre edilerek ayrılmış su ile yılanmaktadır ve vakum altında kurutulmaktadır. Bu yöntem ile 50-500  $\mu\text{m}$  arasında partikül büyüklüğüne sahip agregatlar şeklinde küresel kristaller elde edilmektedir.

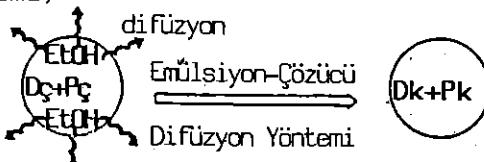
**Kausi-emülsiyon çözücü difüzyon yöntemi** (36): Bu yöntem, çap dağılımı kolaylıkla kontrol edilebilen sürekli etkili mikrokürelerin hazırlan-

ması ve daha iyi bir farmasötik işlem yapılması amacıyla küresel kristalizasyon tekniğinin modifiye edilmesiyle geliştirilmiştir. Etken madde ve akrilik polimer, etanol içinde çözülmekte ve emülgatör olarak sukroz yağ asidi esteri içeren su ile karıştırılmaktadır. İşlem, 25°C sıcaklıkta yürütülmektedir. Etken madde ve polimerin etanoldeki çözeltisi su ortamına boşaltıldığında etanol çözeltisi, koaservat benzeri damlalar şeklinde ayrılmaya başlamaktadır. Sistem, yumuşak boncuklar şeklinde iken dereceli olarak katılaşğından kuasi-emülsiyon olarak isimlendirilmektedir ve bir kaç dakika içinde katı mikroküreler elde edilmektedir. Mikroküre oluşum mekanizması için kuasi-emülsiyon çözücü difüzyon modeli Şekil 3'de görülmektedir. Yöntemde mikrokürelerin çapını tayin eden asıl faktörler, formülasyondaki etken madde ve polimer konsantrasyonları ile sistemin karıştırılma hızıdır.

(Yöntem)



(Mekanizma)



Yağ daması

D: İbuprofen

P: Akrilik polimer

Katı matris

ç: çözelti

k: katı

Şekil: 3 Mikrokürelerin hazırlanma işlemi ve mekanizması (36)

**Sıcakta eritme yöntemi** (37): Mikrokürelerin hazırlanmasında kullanılan diğer bir polimer grubu polianhidritlerdir. Polianhidritler, degradasyon ürünlerinin toksik olmaması, biyolojik olarak geçimli olmaları, polimer çatısındaki basit değişikliklerle etken maddenin salım hızının 100 kat değiştirilebilmesi ve hidrofilik olanlarının yüzeyden aşınma göstermesi gibi nedenlerle seçilmiştir. Bu polimerler, suya dayanıklı olmayan bağ içermesi nedeniyle su kullanımını gerektiren genel mikroküre hazırlama yöntemleri ile

mikroküre haline getirilememektedir. Bu nedenle sıcakta eritme yöntemi kullanılmaktadır. İşlemde erilmiş polimer, etken madde ile karıştırılmakta ve bu karışım, polimerin erime noktasının 5° C üzerindeki sıcaklığa getirilmiş, ortam ile karışmayan bir çözücüye ilave edilmektedir. Devamlı karıştırılarak emülsiyon elde edildikten sonra sistem, çekirdek materyal katılışincaya kadar soğutulmaktadır. İşlemde kullanılan çözücüler, silikon ve zeytin yağıdır. Etken maddenin partikül büyüğünün genelde 50  $\mu\text{m}$ 'nin altında olması, mikroküreler içindeki etken maddenin uygun dağılımı açısından önemlidir. Soğutma işleminden sonra mikroküreler, petrol eteri ile yıkanmakta ve kurutulmaktadır.

Ayrıca mikrokapsüllerin hazırlanmasında sıkılıkla kullanılan faz ayrışması yöntemleri, mikrokürelerin hazırlanmasında da kullanılabilirlerdir (38).

## KAYNAKLAR

- 1- Gürsoy, A., Pişkin, E., Dörtunc, B., Peppas, N. A., (1989), Kontrollu İlaç Serbetleştirilen Sistemler, Sayfa 142-148, Tekno Grafik-Ada Ofset, İstanbul.
- 2- Robinson, J. R., Lee, V. H. L. (Eds.), (1987), Controlled Drug Delivery Fundamentals and Applications, 2 nd ed., pp. 448-450, 558-559, Marcel Dekker, Inc., New York.
- 3- Duncan, R., Seymour, L.W., (1989), Controlled Release Technologie, A Survey of Research and Commercial Applications, pp. 2-3, 126-127, 132-133, Elsevier Science Publishers Ltd., UK.
- 4- Oppenheim, R.C., (1986), Nanoparticulate Drug Delivery Systems Based on Gelatin and Albumin, in Polymeric Nanoparticles and Microspheres (Eds. Guiot, P., Couvreur, P.), pp. 2-24, CRC Press, Inc., Florida.
- 5- Tomlinson, E., (1983), Microsphere delivery systems for drug tarageting and controlled release, Int. J. Pharm. Tech. Prod. Mfr., 4 (3) , 49-57.
- 6- Edman, P, Artursson, P., Laakso, T., Sjöholm, I., (1986), Solid microspheres as drug delivery systems, in Methods of Drug Delivery (Ed. Ihler, G. M.), pp. 23-37, Pergamon Press, Uk.
- 7-Thies, C., (1989), Dispersed Systems for Parenteral Administration, in Controlled Release of Drugs:Polymers and Aggregate Systems (Ed. Rosoff, M.), pp. 97-123, VCH Publishers, Inc., New York.
- 8-Kaş, H. S., (1990), Magnetically targeted microspheres: A review, *Pharmacia JTPA*, 30 (2), 77-97.
- 9- Bodrmeier, R., McGinity, J. W., (1988), Solvent selection in the preparation of

- poly (DL-Lactide) microspheres prepared by the solvent evaporation method, Int. J. Pharm., 43, 179-186.
- 10- Fong, J. W., Nazareno, J. P., Pearson, J.E., Maulding, H.V., (1986), Evaluation of biodegradable microspheres prepared by a solvent evaporation process using sodium oleate as emulsifier, J. Contr. Rel., 3, 119-130.
- 11- Benita, S., Benoit, J., Puisieux, F., Thies, C , (1984), Characterization of Drug-Loaded Poly (d, L-Lactide) Microspheres, J. Pharm. Sci., 73 (12), 1721-1724.
- 12-Kishida, A., Dressman, J.B., Yoshioka, S., Aso, Y., Takeda, Y., (1990), Some determinants of morphology and release rate from poly (L) lactic acid microspheres J. Contr. Rel., 13, 83-89.
- 13- Cavalier, M., Benoit, J. P., Thies C., (1986), The formation and characterization of hydrocortisone-loaded poly (D, L-Lactide) microspheres, J. Pharm. Pharmacol., 38, 249-253.
- 14- Juni, K., Ogata, J., Nakano, M., Ichihara, T., Mori, K., Akagi, M., (1985), Preparation and evaluation invitro and invivo of polylactic acid microspheres containing Doxorubicin, Chem. Pharm.Bull., 33 (1), 313-318.
- 15-Barkai, A., Pathak, Y.V., Benita, S., (1990) Polyacrylate (Eudragit Retard) microspheres for oral controlled release of Nifedipine. I. Formulation design and process optimization, Drug Dev. Ind. Pharm., 16(13), 2057-1075.
- 16-Pongpaibul,Y., Maruyama, K., Iwatsuru, M., (1988), Formation and in-vitro evaluation of Theophylline-loaded poly (methyl methacrylate) microspheres, J. Pharm. Pharmacol., 40, 530-533.
- 17- Juhi M, Hamaho L, Kubota, M., (1986), Controlled release of Aclarubicin, an anticancer antibiotic, from poly-beta-hydroxybutyric acid microspheres, J.Contr. Rel., 4, 25-32.
- 18- Benedetti, L.M., Topp, E. M., Stella, V.J., (1990), Microspheres of hyaluronic acid esters-Fabrication methods and in vitro hydrocortisone release, J. Contr. Rel., 13, 33-41.
- 19- Spenlehauer, G., Vert, M., Benoit, J. P., Chabot, F., Veillard, M., (1988), Biodegradable cisplatin microspheres prepared by the solvent evaporation method: morphology and release characteristics, J. Contr. Rel., 7, 217-229.
- 20- Pongpaibul, Y., Price, J.C., Whitworth, C. W., (1984), Preparation and evaluation of controlled release Indomethacin, Drug Dev. Ind. Pharm., 10 (10), 1597-1616.
- 21- Cha, Y., Pitt, C. G., (1989), The acceleration of degradation-controlled drug delivery from polyester microspheres, J. Contr. Rel., 8, 259-265.
- 22-Chen, Y., Willmott, N., Anderson, J., Florence, A. T., (1987), Comparison of al-

- bumin and casein microspheres as a carrier for Doxorubicin, *J.Pharm. Pharmacol.*, 39, 978-985.
- 23-Willmott, N., Chen, Y., Goldberg, J., Mcardle, C., Florence, A.T., (1988), Biodegradation rate of embolized protein microspheres in lung, liver and kidney of rats, *J. Pharm., Pharmacol.*, 41, 433-438.
- 24-Burgess, D.J., Davis, S.S., Tomlinson, E, (1987), Potential use of albumin microspheres as a drug delivery system. I. Preparation and in vitro release of steroids, *Int. J. Pharm.*, 39, 129-136.
- 25- Burgess, D. J., Davis, S.S. (1988), Potential use of albumin microspheres as a drug delivery system. II.In vivo deposition and release of steroids, *Int. J. Pharm.*, 46, 69-76.
- 26- Reddy, B. P., Dorle, A. K., Krishna, D.R., (1990), Albumin micrsopheres: Effect of process variables on size distribution and in vitro release, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 16 (11), 1791-1803.
- 27- Tabata, Y., Ikada, Y., (1989), Synthesis of gelatin microspheres containing Interferon, *Pharm. Res.*, 6 (5), 422-427.
- 28-Longo, W. E, Iwata, H., Lindheimer, T. A., Goldberg, E. P., (1982), Preparation of hydrophilic albumin microspheres using polymeric dispersing agents, *J.Pharm. Sci.*, 71 (12), 1323-1328.
- 29- Jeyanthi, R., Panduranga Rao, K., (1987)., Preparation of gelatin microspheres of Bleomycin, *Int. J. Pharm.*, 35, 77-79.
- 30- Artursson, P., Berg, A., Edman, P., (1989), Biochemical and cellular effects of degraded starch microspheres on macrophages, *Int. J. Pharm.*, 52, 183-190.
- 31- Artursson, P. , Laakso, T., Edman, P., (1983), Acrylic microspheres in vivo IX: Blood elimination kinetics and organ distribution of microparaticles with different surface characteristics, *J. Pharm. Sci.*, 72 (12), 1415-1420.
- 32- Artursson, P., Edman, P., Laakso, T., Sjöholm, I., (1984), Characterization of polyacryl starch microparticles as carriers for proteins and drugs, *J. Pharm. Sci.* 73 (11), 1507-1513.
- 33-Stjärnkvist, P., Lakkso, T., Sjöholm, I., (1989), Biodegradable microspheres XII: Properties of the crosslinking chains in polyacryl starch microparaticles, *J.Pharm. Sci.*, 78 (1), 52-56.
- 34- Stjärnkvist, P. , Artursson, P., Brunmark, A., Laakso, T., Sjöholm, I., (1987), Biodegradable microspheres VIII: Killing of leishmania donovani in cultured macrophages by microparticle-bound Primaquine, *Int. J. Pharm.*, 40, 215-222.
- 35-Akbuğa, J., (1989), Preparation and evaluation of controlled release Furosemide microspheres by spherical crystallization, *Int. J. Pham.*, 53.q, 99-1105.

- 36, Kawashima, Y., Niwa, T., Handa, T., Takeuchi, H., Iwamoto, T., Itoh, K., (1989). Preparation of controlled release microspheres of Ibuprofen with acrylic polymers by a novel quasi-emulsion solvent diffusion method, J. Pharm.Sci., 78 (1), 68-72.
- 37- Mathiowitz, E., Langer, R., (1987), Polyanhydride microspheres as drug carriers. I. Hot-melt microencapsulation, J. Contr. Rel., 5, 13-22.
- 38- Sanders, L. M., Kent, J.S., McRae, G.I., Vickery, B.H., Tice, T.R., Lewis, D.H., (1984), Controlled release of a LHRH analogue from poly (d, l-lactide-co-glycolide) microspheres, J. Pharm. Sci., 73 (9), 1294-1297.